

TANULMÁNYOK A TERMÉSZETTUDOMÁNYOK KÖRÉBŐL

ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATOK A HELIX POMATIA BÉLCSATORNA FALÁBAN LEVŐ IDEGVÉGZŐDÉSEKRŐL

TÁNCZOS JÓZSEF és TÁNCZOS JÓZSEFNÉ

Bevezetés

Az éti csiga (*Helix pomatia*) bélcsatornájának beidegzési viszonyait már korábban ÁBRAHÁM [1, 2] és TÁNCZOS [8, 9, 10, 11] vizsgálták. Ezek a vizsgálatok említést tesznek a csiga bélcsatorna falában elhelyezkedő idegrostokról és idegsejtekről. Az idegrostok végrészeiről, végződéseiről szinte csak a feltételezés hangján szólnak, illetve írnak [2, 8], s csak néhány fénymikroszkópos megfigyelés és felvétel alapján következtetnek a végzódések jelenlétére [8]. Ezek a képek sem voltak egyértelműen meggyőzőek. Éppen ezek a bizonytalan képek és a végzódések nem teljes ismerete volt egyik kiindulópontja az elektronmikroszkópos vizsgálatoknak.

A másik és igen lényeges kérdés az volt, hogy ezek a végzódések hogyan és miképpen kapcsolódnak a bélcsatorna falát zömmel alkotó izmokhoz.

Az izmok működésére vonatkozó élettani ismeretek:

- a) mechanikai — WEBNITZ [13],
- b) biokémiai — FOH [5], SCHLOTE [7], TWAROG [12], KOELLE ÉS FRIEDENWALD [6],
- c) pharmacológiai vizsgálatok — ZELTNER [14].

Ismeretes az izmok működésének állapotai, amelyek szép diagramokkal vannak ábrázolva. Ismertek továbbá azok az anyagok, amelyek a kontrakciókat létrehozzák, azt fenntartják és elernyesztik. Ezeket az anyagokat egyértelműen tudták izolálni és ezek hatásmechanizmusát tudják mérni és értékelni.

Ezek a jelzések és megfigyelések azonban mindaddig problematikusak maradnak, míg a pontos beidegzési viszonyokat meg nem ismerjük.

Az éti csiga (*Helix pomatia*) bélcsatornájának elektronmikroszkópos beidegzési viszonyai ÁBRAHÁM előadásából ismeretesek. Foglalkozott a neurosecretios és a glia granulomokkal. A neurosecretios granulomok vesiculáinak két típusát ismertette. E két típus alakítani eltérést mutat, amelyek fiziológiailag is eltérő tevékenységet fejtenek ki.

Fény- és elektronmikroszkópos megfigyeléseinkkel a morfológiai vizsgálatok kiegészítésére törekszünk. Törekvésünk az, hogy a működés szerkezeti alapjait adjuk.

Anyag és módszer

A vizsgálati anyag minden esetben jól fejlett éti csiga volt. A vizsgálatoknak megfelelően az anyagot két féle módon készítettük elő. -

A fénymikroszkópos vizsgálatokhoz a megölt állatból a bélcsatornát kiboncoltuk, azt 10%-os neutrális formalinnal töltöttük meg, s ugyancsak 10%-os neutrális formalin oldatba helyeztük. Körülbelül egy hónapos rögzítés után a bélcsatornát a formalintól megszabadítottuk s desztillált vízbe helyeztük. Ezután a bélcsatorna

belső rétegét a hámmal együtt leválasztottuk az izomrétegről s ez utóbbit impregnáltuk ezüstnitráttal. Az impregnáláshoz a Bielschowsky—Ábrahám [3] féle ezüstimpregnációs módszert alkalmaztuk.

Az elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz az éti csiga bélcsatornáját Ringer oldatban boncoltuk ki.

1. A bélcsatorna kis darabkáit, körülbelül 1 mm² nagyságúakat 2,5%-os glutaraldehyddel rögzítettük kakodylat pufferban 0,1M pH 7,2.
2. Ezt követte a 0,1M Natriumkakodylat pH 7,2 oldat 7,5%-os sacharozos kezelése.
3. Rövid desztillált vizes mosás.
4. utána 3%-os osmium S collydin pufferba (2:1 arány) helyeztük az anyagot.
5. Ezután következett a leöblítés és a dehidráció felszálló alkohol sorozattal.
6. A 75%-os alkohol mellett uranilacetátos kezelést is végeztünk.
7. A többszöri abszolút alkoholos kezelés után propilenoxidba
8. majd propilenoxid és Spurr 1:1 arányú keverékébe s végül
9. a Spurr beágyazó anyagba kerültek a kis bélcsatorna darabkák.
10. Ezt követte az anyagrészek kapszulákba történő helyezése 56 C°-os termosztátba.
11. Metszés ultramikrotommal.
12. EM felvétel készítése TESLA BS 500-as elektromikroszkóppal.

Vizsgálati eredmények

Az éti csiga bélcsatornájának beidegzését a ganglion visceráléból kapja a nervus intestinalison keresztül. A nervus intestinalis gazdag fonadékrendszert alakít ki az izomszövet elemei között [8]. A fonadékrendszer lefutásában igen sok idegsejt van. Ezek igen változatos formát mutatnak, amelyek az ezüstimpregnációs készítményeken jól tanulmányozhatók [9]. Az idegrostok alaktanilag eltérőek. Ott ahol az izmok összehúzódnak állapotban rögzültek meanderszerűek, míg az elernyedő szakaszokon, részeken sajátságos, de mégis harmonikusan egyenesebb lefutásúak.

Az idegrostok lefutásaiban szabálytalan tereket zárnak közre. A rostok kollagenrostokat tartalmazó kötőszövetbe ágyazottak. A rostokon varixok, fibrillaris fellazulások figyelhetők meg. A rostok végei olykor a fénymikroszkópos megfigyelések során szinte nyomtalanul eltűnnek, máskor és aránylag elég ritkán sajátos kiszélesedések, végződéses formájában figyelhetők meg [8].

A végződéseket illetően Bogusch [4] fénymikroszkópos vizsgálatai során szintén hiányolja az idegvégződéseket.

Az idegrostkötegek az izomrostokkal párhuzamosan, míg a finomabb idegrostok kezdeti szakaszai szintén párhuzamosan és végrészei arra merőlegesen helyezkednek el.

Az elektromikroszkópos vizsgálatok felvételei alapján sikerült az idegrostvégek finomabb szerkezetét és a neuromuscularis kapcsolatot megismerni. Ilyenirányú vizsgálatainkat a következőkben foglalhatjuk össze:

A kiszáraztatott elektronmikroszkópikus (EM) átnézeti képeken (1. ábra) jól látszanak az egymással párhuzamosan futó izomsejtek, melyek részben hosszszelvényben, részben keresztmetszetben tűnnek elő. Az izomsejtek felszíne tagolt. A sarcoplasma tüskeszerű nyúlványokat bocsájt az intercellularis terekbe. Az egyes sejtek helyenként szorosan illeszkednek egymáshoz, másutt pedig viszonylag tág intercellularis terek alakulnak ki, s e terekben idegrostok kötegei és az azokat határoló gliasejtek láthatók.

Az egész intercellularis állomány igen nagymennyiségű kollagénrostot tartalmaz, amelynek az átmetszetei igen jól látszanak.

Az izomsejtek magjai rendszerint periferikusan helyezkednek el, elnyúlt alakúak és kromatinban gazdagok.

Az idegrostok gyakran szoros közelségbe kerülnek az izomsejtekkel, olyannyira, hogy a két membrán — a sarcolemma és az axolemma — közvetlenül egymás mellett fekszik.

Az izomsejtek közvetlen a sarcolemma alatt világos vesiculákat tartalmaznak, s ezek jellegzetessé teszik azok felszíni részeit.

Gyakran láthatók hosszú sejtnyúlványok egyes izomsejtek felszínén s ezekben ugyancsak számos világos vesicula figyelhető meg.

Nagyobb nagyítás mellett jól látható, hogy az izomsejtek felszínén egy finom szemcsés anyag foglal helyet, s ez magában foglalja a basalis membránt és a glykokalixot is (2. ábra).

Az izomsejtekben viszonylag kevés mitokondrium látható (3. ábra). Ezek rendszerint sötét struktúrával rendelkeznek és cristáik változó irányban orientáltak. He-lyenként egy-egy lipoid csepp is megfigyelhető az izomsejt plasmájában (2., 3. ábra).

Már kis nagyítás mellett is szembetűnő volt, hogy egyes izomsejtek közvetlen szomszédságában egy-egy axon foglal helyet. Gyakran tapasztaltuk, hogy egy izomsejt mentén több és különböző típusú axon is előfordul.

Legnagyobb gyakorisággal a 60—70 nm átmérőjű nagy elektrondenzitású ovoid alakú neurosecretios granulomokat tartalmazó axon profilokat találtuk az izomsejtek közvetlen szomszédságában. A nagyobbak elérik a 70—80 nm is, de ezeknek a száma aránylag kisebb (4. ábra).

Viszonylag ritkábban dense core típusú 50—60 nm átmérőjű axonprofilok is szoros morfológiai kontaktusban állnak az izomsejtekkel (2. ábra).

A dense core vesiculákat tartalmazó rostok között is különbség figyelhető meg, főként a szemcsék elektrondenzitásában.

Néha olyan axonokat is megfigyelhetünk az izomsejtekkel való szoros morfológiai kontaktusban, amelyekben főleg alacsony elektrondenzitású és tojásdad alakú neurosecretios granulomok voltak megfigyelhetők (5. ábra). Ezek átmérője 60—80 nm. Belsejük homogénnek tűnő, s igen heterogén populációt mutat. Egyes esetekben ezen alacsony denzitású neurosecretios szemcsék alakja gömbölyded (2. ábra).

A neurosecretios axonok felszínén esetenként glia sejtek nyúlványait tudtuk megfigyelni (3. ábra), s ezen nyúlványokban nagyszámú glia granulum is látható volt. A gliasejt nyúlványait a 2. ábra jól szemlélteti.

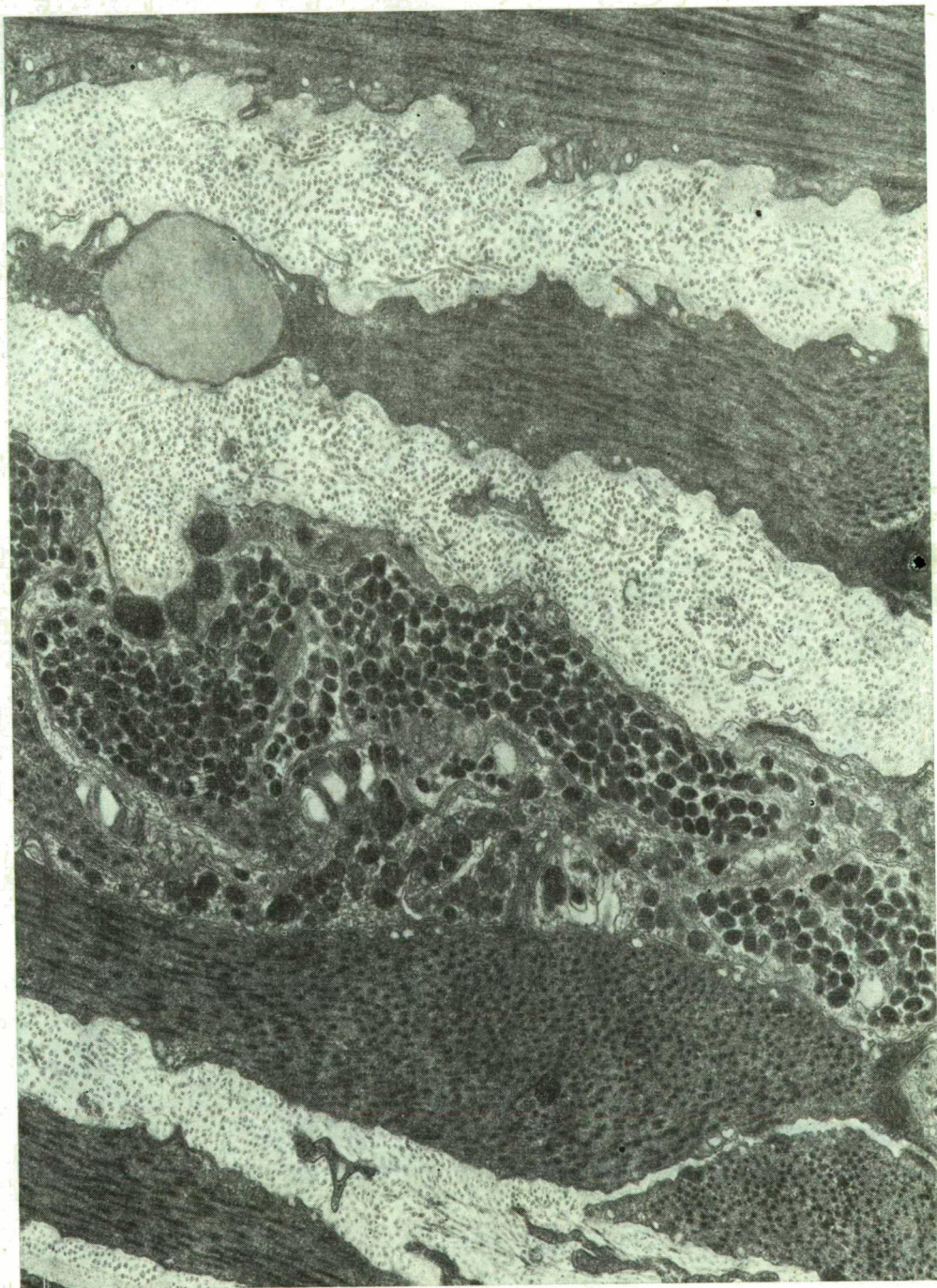
Sinapsis vagy sinaptoid jellegű struktúrákat az axonok és az izomsejtek között nem sikerült megfigyelni.

Ritkán volt látható funkcionális rés, junctional gap az izomsejt és az axon kapcsolatában (6. ábra).

Az ideg és izomsejt szorosabb kapcsolatát az és működésében valószínűleg nagy jelentősége van a pinocytosisnak. A nagy felület érintkezései mellett igen gyakran megfigyelhetők az exo- és endocytotikus vesiculák. Ezek a membrán melletti módosulatok és képződmények lehetnek a transmitter anyagok továbbítói.



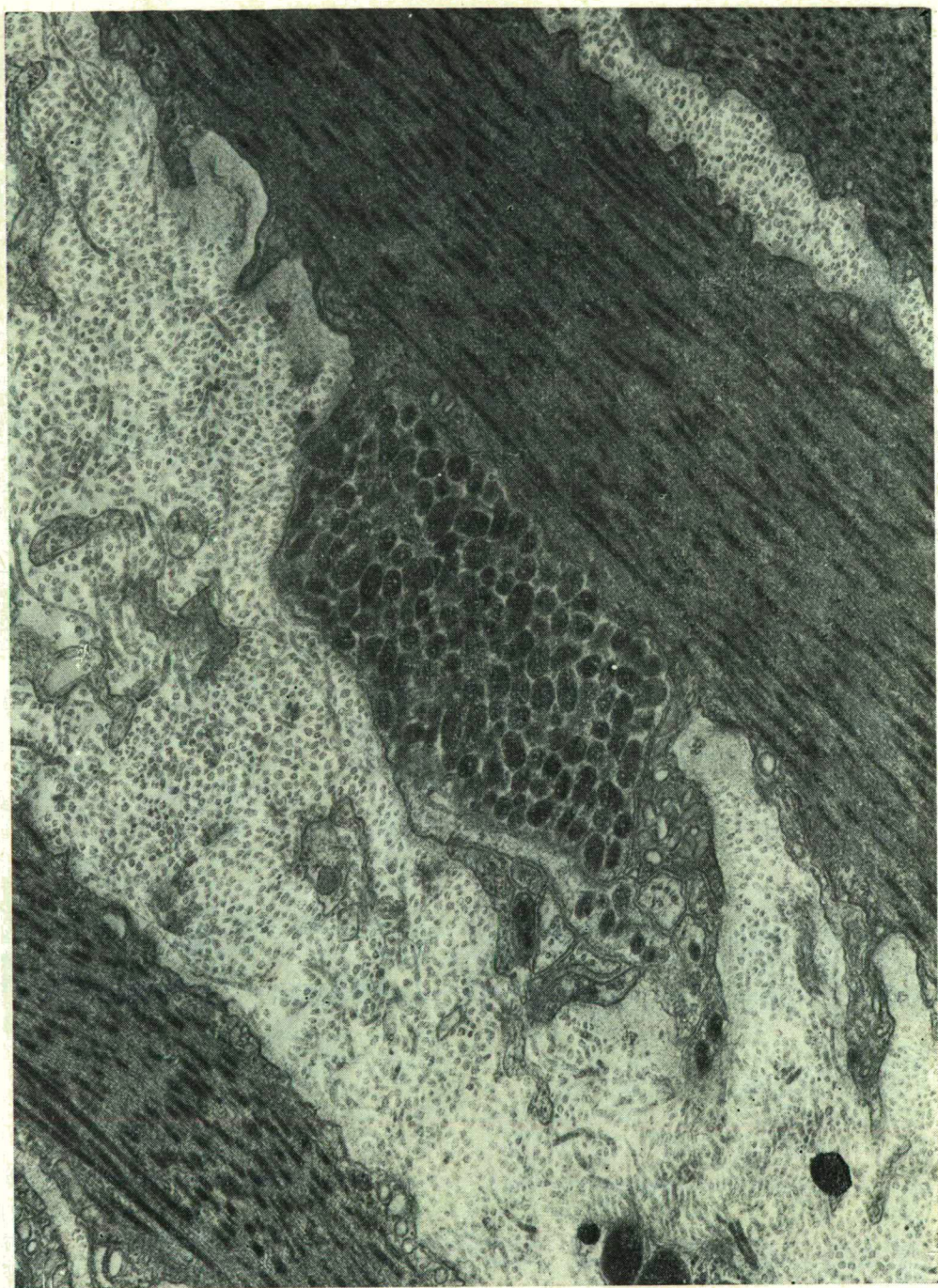
1. ábra. *Helix pomatia*: bélcsatorna beidegzés; izomsejtek, intercelluláris terek, kollagénrostos kötőszövet, gliasejt nyúlvánnyal. Nagyítás: 9900-szoros.



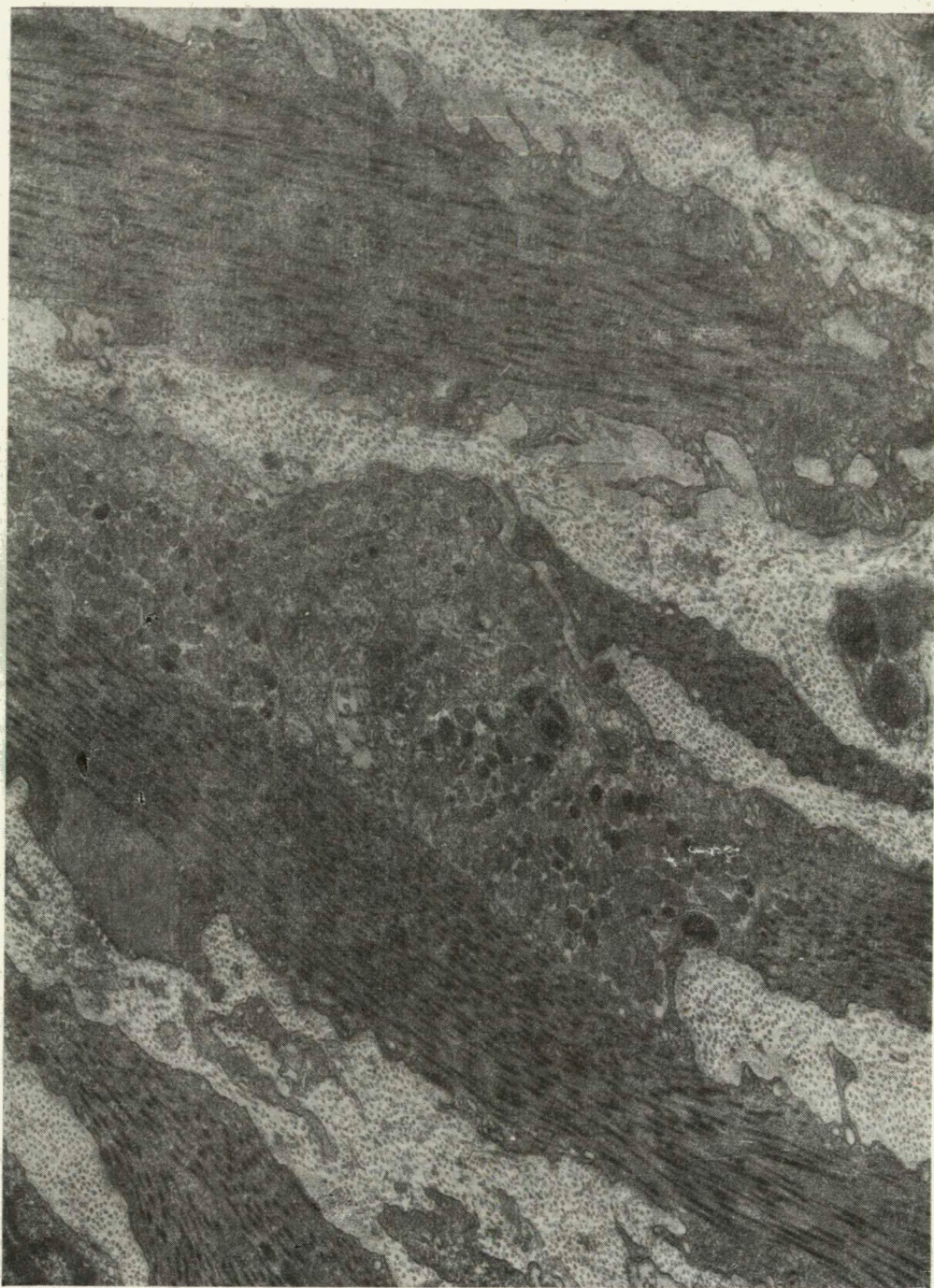
2. ábra. *Helix pomatia*: bélcsatorna beidegzés; izomsejtek felszínén finom szemcsés anyag. Nagyítás 19 800-szoros



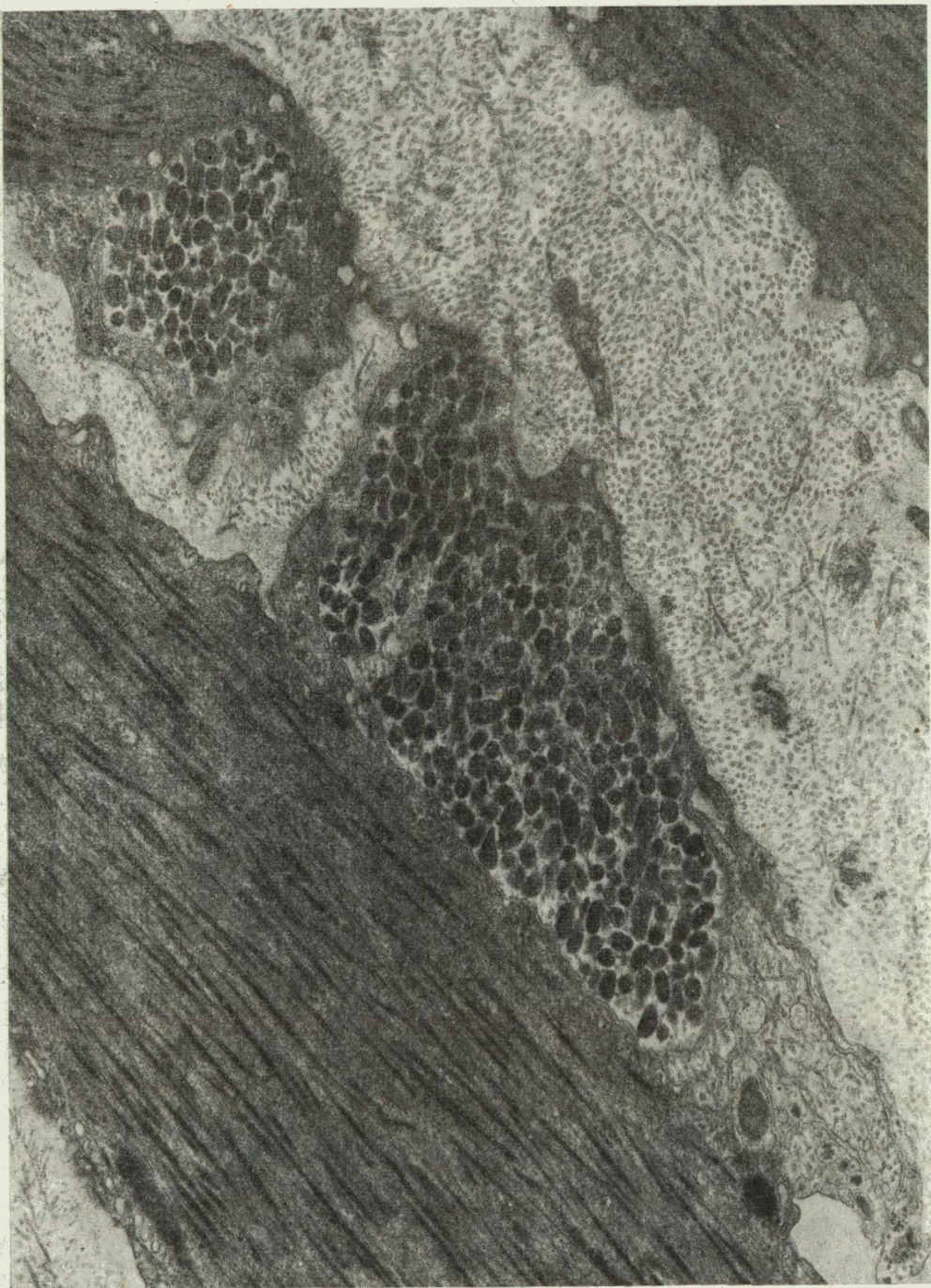
3. ábra. *Helix pomatia*: bélcsatorna beidegzés; mitokondriumok, glia granulomok, axon—izomsejt kapcsolat. Nagyítás: 19 800-szoros



4. ábra. *Helix pomatia*: bélcsatorna beidégzés; neurosecretios granulomokat tartalmazó profilok.
Nagyítás: 30 000-szeres



5. ábra. *Helix pomatia*: bélcsatorna beidegzés; alacsony denzitású neurosecretions granulomok.
Nagyítás: 19 800-szoros



6. ábra. *Helix pomatia*: bélcsatorna beidegzés; endo- és exocytosisok. Nagyítás: 24 900-szoros

Összefoglalás

Az éti csiga (*Helix pomatia*) bélcsatorna falának idegvégződéseit a fény- és elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján a következőkben foglalhatjuk össze:

1. A bélcsatorna idegellátását a ganglion visceraléből a nervus intestinalison keresztül kapja.
2. Az idegkötegek és rostok lefutásukban szabálytalan tereket zárnak közre. Lefutásukban idegsejtek változatos típusai figyelhetők meg.
3. Az ezüstimpregnációs mikroszkópi készítményeken a varicositás és a ritkán megfigyelhető végződések ismertek.
4. Az axonok lefutásukban szoros kapcsolatot tartanak fenn az izomsejtek membrán rendszerével.
5. Az axonok lefutásaiban, de különösen a végrészekben neurosecretios granulumok helyezkednek el. Ezek alaktanilag és szerkezet tekintetében négy csoportba oszthatók.
6. A neurosecretios granulumokat tartalmazó vesiculák 50—60 nm-től 80, olykor 120 nm nagyságrendűek.
7. Az izom és idegelemek finomabb kapcsolatában és különösen a működésben jelentős szerepe van a pinocytosisnak, valamint az endo- és exocytotikus vesikuláknak, amelyek valószínűleg a transmitter anyagok továbbítói.

IRODALOM

- [1] ÁBRAHÁM A.: A csigák bélcsatornájának mikroszkópikus beidegzése. Matematikai és Természettudományi Értesítő, 58, 1939, 536—549.
- [2] ÁBRAHÁM A.: Die Innervation des Darmkanals der Gastropoden. Zschr. Zellforsch. u. mikr. Anat., 30, 1940., 273—296.
- [3] ÁBRAHÁM A.: Die intramuralen Nerven der Kranzgefäße. Acta Universitatis Szegediensis. Sectio Scientiarum Naturalium, Pars Zoologica, 3, 1951, 13—19.
- [4] BOGUSCH, G.: Zur Innervation des glatten Penisretraktormuskels von *Helix pomatia*: Allgemeine Histologie und Histochemie des monoaminergen Nervensystems. Z. Zellforsch. 126, 1972, 383—401.
- [5] FOH, E.: Die Auswirkungen passiver Dehnungen auf die Struktur des glatten Musculus retractor penis von *Helix pomatia*. Dissertation der Math.-nat Fakultät, Göttingen 1967.
- [6] KOELLE, G. B., FRIEDENWALD, J. S.: A histochemical method for localizing cholinesterase activity. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 70, 1949, 617—622.
- [7] SCHLOTE, FR.-W.: Submikroskopische Morphologie von Gastropodennerven. Z. Zellforsch. 45, 1957, 543—568.
- [8] TÁNCZOS J.: Néhány csigafaj bélcsatornájának összehasonlító idegszövettani vizsgálata. Szegedi Tanárképző Főiskola Tudományos Közleményei, 1971, 111—123.
- [9] TÁNCZOS J.: Vizsgálatok a *Helix pomatia* bélcsatorna falában elhelyezkedő idegsejteken. Szegedi Tanárképző Főiskola Tudományos Közleményei, 1972, 81—90.
- [10] TÁNCZOS J.: Morfológiai és hisztokémiai vizsgálatok a *Helix pomatia* bélcsatorna falában elhelyezkedő idegsejteken. A X. Biológiai Vándorgyűlés előadásainak ismertetése, Szeged, 1972. 8.
- [11] TÁNCZOS J., TÁNCZOS J.-NÉ: Morfológiai és hisztokémiai vizsgálatok a *Helix pomatia* bélcsatorna falában elhelyezkedő idegsejteken. Szegedi Tanárképző Főiskola Tudományos Közleményei, 1977, 68—73.
- [12] TWAROG, B. M.: Responses of a molluscan smooth muscle to acetylcholine and 5-HT. J. cell. comp. Physiol. 44, 1954, 141—163.
- [13] WABNITZ, R.: Isometrische Spannungsentwicklung des glicerintrahierten Penisretraktormuskels (MRP) von *Helix pomatia*. Nachweis von Sperreigenschaften. Diplomarbeit zur Erlangung des Diplomgrades der Math.-nat. Fakultät der Univ. Göttingen 1970.
- [14] ZELTNER, H.: Untersuchungen zur Kontraktion des Penisretraktormuskels von *Helix pomatia*. L. Diplomarbeit zur Erlangung des Diplomgrades der Math. nat. Fakultät der Univ. Göttingen 1971.

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE IN DER WAND DES DARMKANALS DER HELIX POMATIA BEFINDLICHEN NERVENENDIGUNGEN

J. TÁNCZOS und MARGIT TÁNCZOS

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der in der Wand des Darmkanals der Gartenschnecke (*Helix pomatia*) befindlichen Nervenendigungen haben folgendes ergeben:

1. Der Darmtrakt erhält seine Nervenversorgung vom Ganglion viscerale über den Nervus intestinalis.
2. Die Nervenbündel und -fasern schliessen in ihrem Verlauf unregelmässige Gebiete ein. In ihrem Verlauf sind wechselvolle Typen von Nervenzellen zu beobachten.
3. In den silberimprägnierten mikroskopischen Präparaten sind Varikositäten und die selten wahrnehmbaren Endigungen bekannt.
4. Die Achsenzylinder unterhalten in ihrem Verlauf enge Beziehungen zum Membransystem der Nervenzellen.
5. Im Verlauf der Axone, besonders aber in ihrem terminalen Anteil, nehmen neurosekretorische Granula Platz, die sich morphologisch und in struktureller Hinsicht in vier Gruppen einteilen lassen.
6. Die neurosekretorische Granula enthaltenden Vesikel haben eine Grössenordnung von 500—600 Å bis 800, ja mitunter sogar bis zu 1200 Å.
7. In den feineren Beziehungen und besonders in der Funktion der Muskel- und Nervenelemente kommt der Pinozytose, sowie den Endo- und Exozytosen, die wahrscheinlich Transporteure der Transmittersubstanzen sind, eine bedeutende Rolle zu.

СВЕТОВОЕ И ЭЛЕКТРОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕРВНЫХ КЛЕТОК, НАХОДЯЩИХСЯ В СТЕНКАХ КИШЕЧНИКА HELIX POMATIA

ТАНЦОШ ЙОЖЕФ—ЙОЖЕФНЭ ТАНЦОШ

В ходе светового и электромикроскопического исследования нервных клеток, находящихся в стенках кишечника *Helix pomatia*.

1. Кишечник улитки получает свою иннервацию из центрального органа вегетативной нервной системы;
2. Элементы нервов и нервные волокна в кишечнике образуют плетёную систему. Нами обнаружены разные типы нервных клеток;
3. На разных микроскопических веществах импрегнации серебра нами обнаружены варикозность и редко поддающиеся наблюдению нервные клетки;
4. Между аксонами и межбранной системой клеток мышц имеется тесная связь;
5. В аксонах, но особенно в конечностях аксонов, имеются невросекрционные гранулы. В морфологическом и структурном отношении они подразделяются на четыре подгруппы;
6. Везикулы, содержащие невросекрционные гранулы, имеют величину 500—600 Å, а иногда даже 800—1200 Å;
7. В тонкой связи, и особенно в функционировании мышц и элементов нервов, большую роль играют пиноцитозы (pinocytosis), эндоцитоз (endocytosis) и экзоцитозы (exocytosis) которые, вероятно, являются передатчиками транмиттер-веществ.